

TRABAJO FINAL DE CARRERA

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y FORESTALES

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA



**EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA A PULGÓN VERDE DE LOS
CEREALES (*SCHIZAPHIS GRAMINUM* RONDANI) EN CEBADAS COMERCIALES
DE AMPLIO USO EN NUESTRO PAÍS**

Alumno: Alan Musa

Número de Legajo: 25098/4

DNI: 31.940.600

Correo electrónico: alan.musa@hotmail.com

Teléfono: 221-15-305-5028

Directora de Tesina: Dra. Érica F. Tocho

Codirectora de Tesina: Dra. María Silvia Tacaliti

Lugar de Trabajo: CISA V, Cátedra de Genética

Fecha de entrega: julio de 2018

INDICE

TRABAJO FINAL DE CARRERA	1
RESUMEN	3
INTRODUCCION	3
Generalidades de la cebada	3
Producción mundial y nacional de la cebada. Usos e importancia	3
Ciclo y Desarrollo.....	5
Generalidades de los áfidos	6
Taxonomía y Evolución.....	6
Caracterización, ciclo de vida, daños y alimentación de los áfidos.....	7
Características de <i>Schizaphis graminum</i>	11
Interacción planta-insecto	12
Generalidades de las respuestas de defensa	12
Control y Manejo Integrado de Plagas.....	14
Estudio de los mecanismos de resistencia de las plantas frente al ataque de insectos	15
OBJETIVO GENERAL.....	17
MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
Poblaciones de áfidos.....	17
Material vegetal	17
Ensayo de Antixenosis.....	18
Ensayo de Tolerancia.....	19
Ensayo de Antibiosis.....	21
Análisis estadísticos.....	22
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	22
Ensayo de antixenosis	22
Ensayo de tolerancia	24
Ensayo de Antibiosis.....	29
CONCLUSIONES	32
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	33

RESUMEN

El presente Trabajo Final de carrera consiste en la evaluación fenotípica de variedades comerciales de cebada frente a la infestación con pulgón verde de los cereales (*Schizaphis graminum*). Se llevaron a cabo ensayos de antixenosis, tolerancia y antibiosis en 20 variedades. Entre estas se encontraron diferentes grados de resistencia a la plaga. Algunas, tales como Q. Carisma, Sylphide, Sunshine y Bv7207, fueron tolerantes a la alimentación del áfido y a su vez, Sylphide presentó características de antibiosis.

Sin embargo, las variedades más utilizadas por los productores cerveceros por su alto potencial de rendimiento y calidad, Andreia, Shakira y Scarlett, fueron caracterizadas como susceptibles o moderadamente susceptibles al áfido en el presente estudio. Por lo tanto, de darse condiciones favorables para el avance de esta plaga, casi la totalidad de la superficie sembrada con cebada podría ser afectada. Por ello, la información generada en este estudio representa un insumo directo a implementar en los programas de mejoramiento de cebada, a través de cruzamientos específicos en la futura búsqueda de cultivares competitivos con resistencia al “pulgón verde de los cereales”.

Cabe destacar que los resultados obtenidos en el presente trabajo representan la primera aproximación a nivel fenotípico de la respuesta de genotipos de cebada registrados en Argentina frente al ataque del pulgón verde de los cereales, que representan la totalidad del área sembrada con dicho cultivo.

INTRODUCCION

Generalidades de la cebada

Producción mundial y nacional de la cebada. Usos e importancia

La cebada es uno de los cultivos más importantes del mundo que ocupa el cuarto lugar en importancia luego del trigo, el maíz y el arroz. En Argentina, es usada casi exclusivamente para la fabricación de malta, a diferencia de Europa donde existe un mercado forrajero que absorbe el producto excedente o de mala calidad.

En Argentina los destinos principales de las exportaciones de cebada cervecera se dan regionalmente, es decir en América del Sur. Pero es especialmente Brasil quien concentra la mayor cantidad de las exportaciones argentinas de cebada, con el 50 % aproximadamente del total exportado, durante el último quinquenio. Esta situación, seguramente se extenderá en el tiempo ya que Brasil no cuenta con

extensas zonas agronómicamente aptas para el cultivo de cebada, y empresas de ese origen ya invirtieron en la construcción de la segunda maltería más grande de Latinoamérica en la localidad bonaerense de Puán (Maltería Pampa).

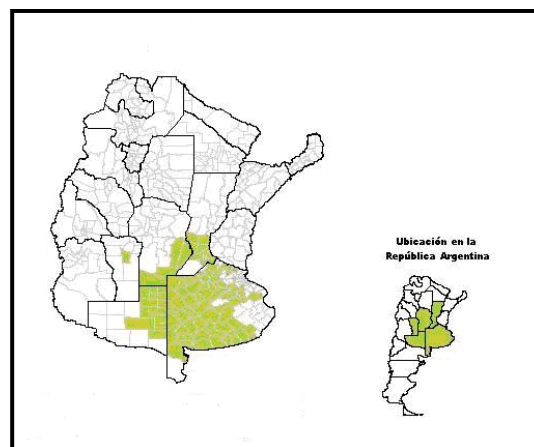
La cebada cervecera ha tenido un desarrollo importante en el país en los últimos 6-7 años, aumentando el área sembrada y su producción. Esto se debió en parte, a la disminución de la superficie sembrada de trigo y al anticipo de la cosecha de cebada con respecto al trigo, que permite mejores y más estables rendimientos de soja de segunda.

En la campaña 2015/2016 se sembraron 1.467.421 hectáreas con una producción de 4.938.720 toneladas y un rendimiento de 3.961 kilogramos por hectárea. (Ministerio de Agroindustria 2018).

La cebada cervecera es un cultivo que depende y está impulsado activamente por la industria de la malta o malterías. Estas reciben todo lo que se produce por contratos y se cosecha con calidad apta para maltería. Una vez abastecidas, exportan los excedentes de cebada cervecera. Siendo muy insignificante la superficie destinada originalmente a cebada forrajera.

En la Argentina existen cinco zonas de producción, las tres más importantes se encuentran ubicadas en la provincia de Buenos Aires, la cual concentra más del 90 % de la producción total (Figura 1).

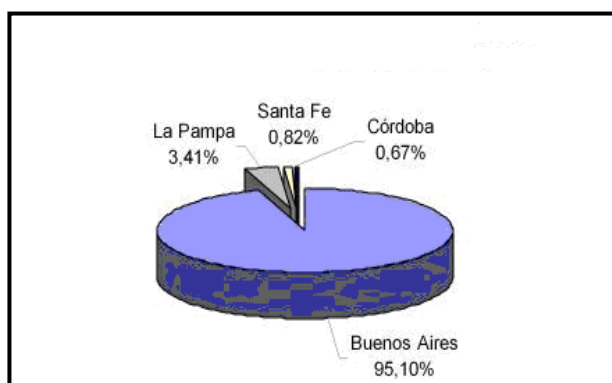
Figura 1. Zonas de producción de cebada cervecera en la República Argentina



Fuente: SAGPyA

El sudeste bonaerense produce el 40 % y es la zona fuertemente definida como productora de cebada cervecera, favorecida por sus características de clima y suelos, aptas para su cultivo y por la presencia de una industria maltera que en los últimos años ha hecho importantes inversiones en la zona. El sudoeste bonaerense y La Pampa concentran el 25 %; el área central de Buenos Aires el 30 % y el restante 5 %, el oeste de Córdoba y este de Santa Fe (Figura 2).

Figura 2. Porcentajes de producción total de cebada cervecera por provincia



Fuente: SAGPyA. Datos promedio del último quinquenio.

Ciclo y Desarrollo

El ciclo vegetativo de la cebada dura entre 100 a 130 días dependiendo de la variedad y de las condiciones externas. Primero sale la raicilla seminal y luego las siguientes. Más o menos sincrónicamente se desarrolla el tallito o plúmula, luego el coleóptilo, hasta lograr perforar el suelo. La emergencia de la primera hoja será tanto más rápida cuanto más elevada sea la temperatura del suelo.

A nivel del suelo se va formando un engrosamiento del falso tallo llamado nudo de ahijamiento. Se dice falso tallo porque aún en esta fase es solamente un conjunto de hojas enrolladas. A partir del nudo de ahijamiento comenzarán a salir hacia abajo las raíces adventicias. Cuando el tallo principal tiene tres o cuatro hojas desplegadas comienzan a producirse tallos secundarios a partir de yemas adventicias ubicadas en el nudo de ahijamiento. El primordio de la espiga ya está diferenciado con la aparición de la segunda hoja aunque la fase de doble domo no ocurre hasta que tiene tres hojas

desplegadas. Junto con el ahijamiento comienza a desarrollarse la espiga del tallo principal. El final del ahijamiento generalmente coincide con la fase en que se alcanza el número máximo de primordios de espiguillas. En esta fase se determina el tamaño “potencial” de dos componentes de la cosecha: el número de espigas y el de granos por espiga.

La aparición de la hoja bandera anuncia la llegada de la fase reproductiva. Cuando la lámina de ésta hoja se ha extendido completamente comienza a detectarse una incipiente hinchazón en su vaina, debida al engrosamiento de la espiga. El inicio de la fase de espigado se da cuando comienzan a emerger las aristas desde la vaina de la hoja bandera.

Los estambres y ovario se diferencian desde la fase de un nudo a la de dos y la formación de polen se da en el estadio de hinchazón de la vaina por el engrosamiento de la espiga y primera espiguilla visible al exterior.

Es importante que en el momento del espigado del tallo principal, los tallos hijos alcancen una altura de, al menos, un tercio de la de éste, sino no producirán espigas viables. La emergencia de la espiga y la antesis se dan en forma sincrónicas y se registra cuando la espiguilla apical ha emergido de la vaina de la hoja bandera. Luego de la fecundación el ovario aumenta su tamaño. Cuando el grano está lleno, su textura es aún blanda, casi acuosa, esta es la fase de grano lechoso. Desde este momento comienza a incrementar el grosor y la densidad del grano llegando a la llamada fase de grano pastoso, hasta alcanzar un máximo, a partir del cual no hay mas acumulación de materia seca. A partir de este momento, se considera que el grano llegó a la madurez fisiológica, en la cual podría germinar inmediatamente si no fuera porque la semilla presenta un período de letargo. El grano pierde humedad, reduciendo su peso total, hasta llegar a un contenido de agua de 10-12%, momento que se conoce como madurez comercial, en el cual está listo para ser cosechado. (Molina Cano, M. 1989)

Generalidades de los áfidos

Taxonomía y Evolución

Los áfidos son pequeños insectos de cuerpo blando, generalmente de forma ovoide o piriforme, cuyo tamaño es variable, desde 0,5 hasta 7 mm, succionadores de savia que se distribuyen por todo el mundo y la mayoría de las especies se concentran en las regiones templadas del planeta (Dixon 1990a).

Clasificación:

Orden: Hemiptera

Suborden: Sternorrhyncha

Superfamilia: Aphidoidea

Familia: Aphididae

Los hemípteros pueden ser identificados por las estructuras particulares del aparato bucal. Las mandíbulas y las maxilas son modificadas en estiletes de variable longitud y están envueltas por un labio multisegmentado. Las mandíbulas, externas, y las maxilas, yuxtapuestas por sus superficies externas forman los canales de salivación y alimentación. Dentro del Suborden Sternorrhyncha se reconocen cuatro grupos principales: Psylloidea, Aleyrodoidea, Aphidoidea y Coccoidea y dentro de Aphidoidea están incluidas tres familias: Phylloxeridae, Adelgidae y Aphididae, llamados comúnmente áfidos, con más de 4500 especies descritas (Forero 2008). El nombre Sternorrhyncha se refiere a la posición del rostro (complejo bucal), el cual tiene su base entre el primer par de coxas y en su posición de descanso es colocado a lo largo de la superficie ventral del cuerpo (Blackman y Eastop 1984).

De todas las especies de áfidos, unas 250 se alimentan en plantas cultivadas y sólo 50 se consideran plagas agrícolas (Eastop 1978).

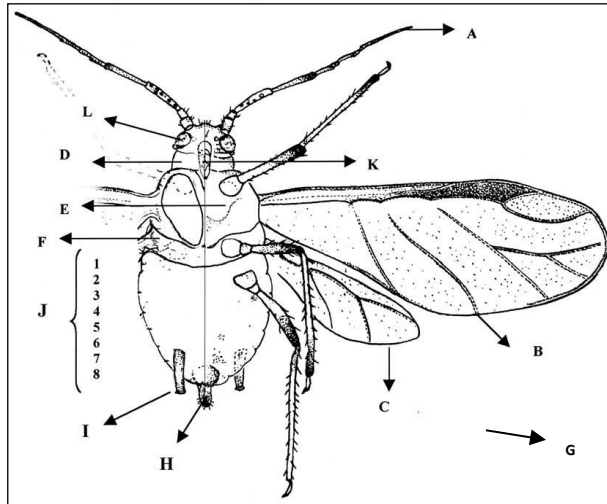
Caracterización, ciclo de vida, daños y alimentación de los áfidos

Para la clasificación entre los distintos áfidos, se utilizan diversas características morfológicas relacionadas con las tres grandes regiones que lo conforman, cabeza, tórax y abdomen, y cada una de sus partes específicas, tales como las antenas, particularidades de las alas, de los cornículos o sifones y de la cauda, entre otros (Figura 3Figura). Es de nuestro interés profundizar en los aspectos del aparato bucal pues con él realizan los daños a las plantas.

Los áfidos se caracterizan por tener un aparato bucal en forma de pico o *rostrum* formado por el labio multisegmentado, abierto a lo largo de la cara anterior en cuyo interior yacen dos pares de estiletes longitudinalmente con prominencias y depresiones en ambas superficies que le permiten moverse uno sobre otro, las mandíbulas externas y las maxilas internas que delimitan el canal alimenticio,

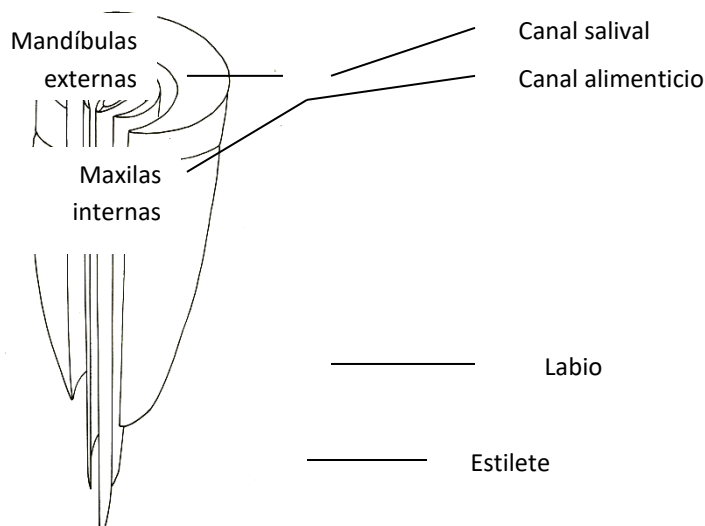
mediante el cual el insecto adquiere el alimento, y el salival, por el cual sale la saliva durante la alimentación (Figura 4).

Figura 3. Características morfológicas generales de los áfidos.



A. antena, B. ala anterior, C. ala posterior, D. protórax, E. mesotórax, F. metatórax, G. patas, H. cauda, I. cornículo, J. segmentos abdominales (1-8), K. rostro, L. ojo compuesto.

Figura 43. Aparato bucal de los áfidos



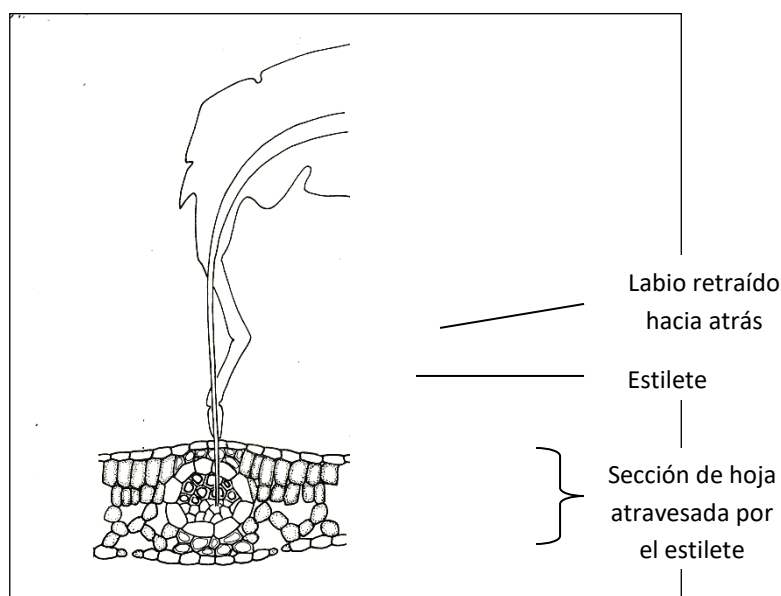
Los áfidos son polimórficos, es decir, tienen más de una forma en su ciclo de vida con funciones específicas. Esta diversidad de formas, la habilidad de reproducirse partenogenéticamente o sexualmente según las condiciones ambientales existentes, y la alternancia entre hospederos, les permite desarrollar poblaciones numerosas en tiempos cortos y aprovechar las condiciones favorables para su desarrollo (Cermeli 1987).

Los áfidos se alimentan de la savia floemática que obtienen de los vasos floemáticos que se encuentran en las plantas, mediante la utilización de los estiletes (Fujimaki *et al.*, 2000) (Figura 5). Dentro del canal de alimentación y de la epifaringe del insecto, se encuentran localizados quimiorreceptores responsables de detectar la composición química adecuada del fluido para su alimentación (Anderson y Bromley 1987, Klingauf 1987b). Esta savia es rica en azúcares, pero relativamente pobre en aminoácidos esenciales, especialmente en aquellos que son necesarios para el desarrollo (Dixon 1998). Para compensar estos bajos niveles de nitrógeno disponible, los áfidos tienen, al menos, dos estrategias para suplir su dieta: la endosimbiosis con bacterias productoras de aminoácidos, por ejemplo la bacteria *Buchnera aphidicola* Buchner (Douglas 1998, Rahbé *et al.*, 2002) y mediante la

inducción de cambios en la planta huésped (similar a los procesos de senescencia de órganos) que influyen en el contenido de aminoácidos del floema.

En el momento de la penetración del estilete y durante la alimentación activa del áfido, son excretadas, al menos, dos tipos de saliva: una que gelifica rápidamente compuesta principalmente de proteínas, fosfolípidos y carbohidratos conjugados, que sería de protección, y otra acuosa, saliva digestiva. Cuando el insecto perfora la célula la saliva de protección se polimeriza alrededor del estilete para formar una capa protectora limitando el contacto directo del estilete con el apoplasto (espacio intercelular) de las plantas. La composición de la saliva digestiva es más compleja y contiene un grupo amplio de enzimas que incluyen pectinasas, celulasas, amilasas, proteasas, lipasas, fosfatasas alcalinas y ácidas y peroxidasas, y otros compuestos capaces de inducir las defensas de la planta (Miles 1999).

Figura 5. Sección de hoja que muestra la penetración del estilete



Los áfidos pueden ocasionar daños directos a las plantas al extraer savia en grandes cantidades, debido a las altas poblaciones que alcanzan. También, causan cambios fisiológicos que inducen modificaciones en el metabolismo de las plantas a favor de ellos, exteriorizándose en forma de agallas, amarillamiento o deformaciones (Cermeli, 1987).

Al succionar más savia de la que le permite la capacidad de su cuerpo, excretan el exceso de azúcar en forma de melaza, que cubre las plantas afectadas, desluciendo su aspecto y tornándolas pegajosas, atrayendo hormigas y permitiendo el desarrollo de hongos, que además de interferir con la función clorofiliana y respiratoria, le quita valor comercial a las partes comestibles (Cermeli 1987).

El mayor daño lo causan los áfidos al transmitir patógenos de plantas, casi exclusivamente virus, al estar adaptados para su transmisión desde el punto de vista morfológico, fisiológico y de comportamiento (Cermeli 1987). De unas 228 especies conocidas como vectoras de virus, 200 pertenecen a la subfamilia Aphididae (Sethi y Swenson 1968).

Características de *Schizaphis graminum*

Schizaphis graminum (Rondani) fue originariamente descrito en Italia, Rondani 1852, estando en la actualidad ampliamente distribuido en Asia, África, Australia y América, siendo una plaga de gran importancia económica. En la Argentina se identificó por primera vez en el año 1914 en la provincia de La Pampa, observándose desde 1937 daños severos sobre cereales finos en la región pampeana subhúmeda y semiárida. Últimamente este áfido ha ampliado su zona de distribución, encontrándose ataques intensos y frecuentes en el centro de la provincia de Santa Fé, Córdoba, La Pampa y sudoeste de la provincia de Buenos Aires. (Noriega *et al.*, 2000). El pulgón verde se distribuye entre los 24° 40' LS hasta 43° 28' LS y entre las isothermas 18-20 °C y 8-10 °C e isohietas 400-600 mm y > a 1200 mm (Clúa *et al.*, 2004)

El cuerpo mide entre 1,7 y 2 mm de largo, de color verde claro brillante con una franja color verde oscuro longitudinal en el dorso del abdomen (Figura 646). Sus ojos son negros, así como también las antenas que son cortas y están dirigidas hacia atrás; los dos primeros antenitos y la porción basal del tercero son amarillentos. Las patas también son amarillentas y los tarsos negros. Los cornículos o sifones son cortos, cilíndricos, no reticulados y convergentes hacia la cauda que es piriforme, algo constreñida en la parte media y con dos cerdas negras de cada lado.

Figura 64. *Schizaphis graminum*



Schizaphis graminum se alimenta del floema de la planta y durante su alimentación inyecta enzimas tóxicas produciendo clorosis y un aumento en la concentración de aminoácidos libres alrededor del sitio de alimentación (Dorschner *et al.*, 1987). La clorosis y necrosis producidas, se deben al colapso de las células por alteración de la permeabilidad de las membranas de cloroplastos, mitocondrias y núcleo (Al-Mousawi *et al.*, 1983). Todos los disturbios ocasionados parecen relacionarse con alteraciones en la fotosíntesis, en la cadena de transporte activo de electrones (Ryan *et al.*, 1987). También se han detectado en los cultivares susceptibles reducción del volumen radical en trigo (Burton, 1986), cebada (Arriaga 1969; Gerloff y Ortman, 1971; Castro *et al.*, 1988), avena y sorgo (Castro *et al.*, 1987, 1990) y la reducción en el crecimiento aéreo de trigo (Burton 1986), cebada (Castro y Rumi, 1987) y centeno (Arriaga, 1956), siendo la causa de esas alteraciones la inhibición que se produce en los ápices caulinares (Castro y Rumi, 1987; Castro *et al.*, 1987, 1989) con reducción de los índices mitóticos (Tacaliti *et al.*, 2002).

Interacción planta-insecto

Generalidades de las respuestas de defensa

. La primera fase que se identifica en la interacción planta-insecto corresponde a la llegada de los individuos a un área que contiene plantas huéspedes potenciales. La orientación visual y olfativa juega un rol decisivo. Los órganos olfativos, que están presentes en los antenitos, pueden detectar los químicos de las superficies de las

plantas como lípidos epicuticulares (Dillwith y Berberet 1990) o componentes de los tricomas de algunas especies de plantas (Avé *et al.*, 1987). Estos químicos son percibidos por los quimiorreceptores presentes en el ápice de sus antenas (Bromley *et al.* 1979) y por el extremo de la tibia y el tarso (Anderson y Bromley 1987).

La fase siguiente es la de “sondeo” y “degustación” de los componentes internos de la planta mediante papilas gustativas. El aparato bucal de los áfidos es de tipo picador-suctor y se caracteriza por presentar estiletes largos en forma de agujas que son introducidos dentro de los tejidos de la planta, en general, en forma intercelular, aunque se dan también incursiones intracelulares durante la búsqueda del floema (Pollard 1973). Esto define el establecimiento del insecto. Una vez que el áfido encontró un sitio de alimentación, normalmente el floema (Pollard 1973), sin compuestos tóxicos (Molyneux *et al.*, 1990), podrá reproducirse, dependiendo del valor nutricional de la savia, reflejado en su contenido de aminoácidos (Wikteliuss *et al.*, 1990) y composición (Weibull, 1988).

En su hábitat natural las plantas están expuestas a distintos tipos de estrés: abiótico, como por ejemplo, sequía, heladas, salinidad, etc., y estrés biótico por ataques de patógenos e insectos. Las plantas utilizan diversas y sofisticadas estrategias para percibir e identificar el estrés y luego activar una respuesta defensiva.

Las plantas tienen la habilidad de reconocer y responder ante el ataque de insectos. Esta característica innata que contienen las células vegetales, es una forma de inmunidad que le permite percibir el “peligro” y transmitir la información en forma sistémica para activar sus defensas (Howe and Jander 2008). Las plantas perciben el estrés de diversas maneras: a través de sensores, receptores, elevación de la concentración de calcio, cambios en la fluidez de la membrana, etc. Luego se producen reacciones bioquímicas, cambios metabólicos y alteraciones del estado fisiológico de la planta. De esta forma, desarrolla mecanismos que pueden aumentar la tolerancia contra los factores de estrés (McDowell y Dangi 2000).

Las plantas utilizan sistemas de defensa constitutivos o inducidos, que pueden influir sobre el momento de establecimiento, alimentación, oviposición, crecimiento y desarrollo, fecundidad y/o fertilidad del insecto. Todas las defensas, ya sean expresadas constantemente o transitoriamente, son costosas metabólicamente (Baldwin y Preston 1999). Aunque ambos sistemas son diferentes entre sí, las plantas son capaces de defenderse con una combinación de los dos sistemas.

Las defensas constitutivas (también llamadas pasivas) pueden ser subdivididas en características morfológicas, estructurales, anatómicas y químicas. Las características anatómicas se refieren por ejemplo al color de hojas y flores, presencia o ausencia de tricomas, la textura de las cutículas, que debido a la presencia de cera,

suberina o calosa, hacen que éstas sean rígidas y duras impidiendo el acceso o ingreso de los patógenos o herbívoros a las células. El espesor de la pared secundaria también puede influir en el comportamiento del insecto.

Los mecanismos de defensas inducidas (o resistencia inducida, RI) pueden ser directos o indirectos. Los primeros están representados por compuestos químicos que actúan por la presencia del herbívoro, provocando su muerte o el retraso del desarrollo (Karban y Baldwin 1997; Lou y Baldwin 2003). En tanto, las defensas indirectas provocan un incremento en la mortalidad de los herbívoros por atracción de predadores y parasitoides (enemigos naturales), mediante la liberación de señales volátiles (Thaler 1999; Kessler y Baldwin 2001). Las defensas inducidas directas actúan como una respuesta de la planta a la infección del patógeno o alimentación del insecto y es necesario un cierto tiempo posterior a la infección para que los efectos sean observables (Karban y Myers 1989). Una vez que la planta detecta al patógeno o insecto, pone en funcionamiento distintos caminos de señalización, activando genes de defensa que sintetizan (luego de la transcripción) enzimas relacionadas con el metabolismo secundario, las que finalmente van a sintetizar fitoalexinas en la zona vecina al ataque o en forma sistémica a través de la planta (Blechert et al 1995).

Para que las plantas puedan activar sus defensas necesitan reconocer al menos alguna molécula como resultado del ataque. Estas moléculas son llamadas “elicitores” (en inglés *elicitors* que significa *inductor*) (Baker *et al.*, 1997). Los elicitores son compuestos de bajo peso molecular producidos por el patógeno/insecto o el huésped, capaces de inducir una respuesta fisiológica o bioquímica de defensa en la planta (Kogel *et al.*, 1998).

Control y Manejo Integrado de Plagas

Un gran número de factores operan en el control de las poblaciones de áfidos en sus hospedantes naturales (Carter *et al.*, 1980). Condiciones ambientales adversas como temperaturas extremas o lluvias fuertes contribuyen a estos efectos.

El control biológico consiste en la manipulación de organismos vivos por el hombre, con el propósito de regular las poblaciones de las plagas, a niveles en los que el daño económico sea reducido significativamente; este se diferencia en la regulación natural en la que no hay intervención del hombre (Carballo y Quezada 1987).

Dentro de los enemigos naturales de los áfidos los parásitos himenópteros juegan un rol importante. Entre ellos podemos mencionar a organismos pertenecientes a las familias Aphididae, Aphelinidae, Braconidae y otras de menor importancia

(Carballo y Quezada 1987). También, son importantes los insectos predadores, perteneciendo muchos de ellos a la familia de los Coccinellidos.

Los plaguicidas químicos han sido el principal método para el control de insectos y en algunos casos el único. Esta práctica es altamente costosa y provoca daños por contaminación y acumulación de residuos tóxicos en el ambiente, así como también ocasiona daños a los insectos benéficos como polinizadores y predadores (Dreyer y Campbell 1987). El uso indiscriminado e irracional de estos productos ha provocado una resistencia de las plagas a los mecanismos de acción de muchos plaguicidas, con lo cual surgió la necesidad de establecer métodos más eficientes para manejar a las plagas sin la necesidad de su eliminación total.

Surge a partir de estas consideraciones el concepto de “Manejo Integrado de Plagas” (MIP) el cual utiliza una serie de herramientas en forma conjunta y complementarias. Los componentes del MIP son: Control químico, Control biológico, Control cultural, Control genético y resistencia varietal y Umbrales económicos de daño. Con el MIP se busca lograr una resistencia estable (perdurable) ante condiciones ambientales variables y poblaciones genéticamente heterogéneas de plagas y patógenos.

El mejoramiento genético mediante la obtención de variedades resistentes es, quizás, la estrategia más efectiva y no contaminante para el control de plagas. La resistencia de las plantas a insectos representa la capacidad que tienen las mismas de restringir, retardar o sobreponerse a la infestación de una plaga.

Las características genéticas de las plantas son modificables por métodos de selección tradicional o asistida por marcadores moleculares (MAS, del inglés *Marker assisted selection*) y existe una gran variedad de procedimientos y estrategias para facilitar el flujo de genes entre plantas para aumentar su resistencia a los herbívoros.

Estudio de los mecanismos de resistencia de las plantas frente al ataque de insectos

Painter (1951) definió tres categorías de resistencia de las plantas a los insectos plagas:

1. Antixenosis o no preferencia: cuando una planta es menos seleccionada o elegida por una plaga para su alimentación, reproducción o protección que otras plantas.
2. Tolerancia: es la capacidad de las plantas de superar el ataque de una plaga sin que tenga una pérdida significativa de la calidad y cantidad de su producción.

3. Antibiosis: cuando una planta modifica la biología del insecto que se alimenta de ella, de esta forma afecta directa o indirectamente el potencial de reproducción del mismo.

Una misma planta puede poseer uno, dos o los tres tipos de resistencia. En general, cuando ella posee dos o tres tipos, estos son gobernados por diferentes genes, aunque existen casos en que un mismo gen presenta efecto pleiotrópico (actúa sobre más de un carácter). Al ser los diferentes mecanismos determinados por factores genéticos distintos, éstos podrán ser acumulados en una misma planta piramidalizándolos y así aumentar su grado de resistencia.

El empleo de más de una categoría de resistencia en forma simultánea ofrece ventajas en el mejoramiento. La antixenosis es deseable por ayudar a evitar la dispersión de los virus por los áfidos, dado que al no alimentarse por un tiempo suficiente en un determinado hospedante, no transmitirá virus a la planta. Por otro lado, se cree que la tolerancia y la antixenosis ejercen una presión de selección menor sobre los áfidos, que previene el desarrollo de nuevos biotipos virulentos (Lage *et al.*, 2003). Sin embargo, se ha indicado (Porter *et al.*, 1997) que los biotipos virulentos de *S. graminum* no se desarrollan como resultado del uso de cultivares resistentes, sino que están presentes antes de liberar esos materiales. No obstante, la tolerancia es un carácter deseable ya que si los áfidos están presentes en el cultivo, no causarán pérdidas significativas y se evitará el uso de pesticidas manteniendo una población de enemigos naturales (Smith, 1989). Sumado a lo anterior, una baja eficiencia reproductiva de los áfidos por antibiosis, podría ser ideal en los cultivos (Lage *et al.*, 2003).

Para poder evaluar el comportamiento de una determinada especie al ataque de áfidos se han conducido una gran diversidad de ensayos en distintas especies y cultivares que demuestran diferente comportamiento frente a su infestación (entre ellos Arriaga 1975; Painter y Peters 1956; Webster y Starks, 1984; Castro 1994; Castro *et al.*, 2001). Esto ha servido para profundizar el estudio de los diferentes mecanismos de resistencia identificados por Painter (1951) y permite el mejoramiento genético de la resistencia por vía tradicional y por la ubicación de marcadores moleculares asociados a genes de resistencia.

Existen antecedentes que confirman que la estabilidad de la resistencia a insectos en condiciones controladas y a campo depende del genotipo del cultivar.

OBJETIVO GENERAL

El objetivo general del trabajo fue evaluar fenotípicamente el comportamiento de variedades comerciales de cebada frente al desafío del pulgón verde de los cereales (*Schizaphis graminum*).

Para lograr el objetivo general y establecer una jerarquía de resistencia en los cultivares comerciales frente al insecto plaga, se plantea:

1. Evaluar la no preferencia o antixenosis en líneas de cebada ante el ataque de pulgón verde
2. Medir parámetros de crecimiento en variedades de cebada infestadas con pulgón verde, para evaluar la tolerancia al insecto.
3. Determinar el grado de antibiosis que manifiestan los distintos genotipos de cebada a los áfidos que se alimentan de ellos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Poblaciones de áfidos

Se utilizó una población de pulgón verde de los cereales recolectados en numerosos campos de la provincia de Buenos Aires y criados sobre cultivares susceptibles de cebada en macetas de un kilo de capacidad, utilizando tierra fértil como sustrato. Las plantas fueron cubiertas con jaulas plásticas con ventilación en el extremo para permitir la aireación y evitar la fuga y contaminación con otros insectos. Las macetas de cría fueron mantenidas en un insectario bajo condiciones controladas de luz (14:10 luz/oscuridad) y temperatura (20°C +/- 3°C).

Material vegetal

Se evaluó un grupo de 23 variedades comerciales de cebadas cervecera ampliamente utilizada en las regiones productoras de nuestro país, provisto por el Grupo de Mejoramiento y calidad vegetal del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Estación Experimental Agrometeorológica (INTA, EEA) de la ciudad de Bordenave, en el marco del convenio de colaboración recíproca con la Cátedra de Genética de la FCAyF-UNLP (Tabla 1).

En todos los experimentos se utilizó tierra orgánica como sustrato para el crecimiento de las plantas sin suplementación nutritiva. Los ensayos fueron llevados a cabo en un insectario con condiciones controladas de luz (14:10 luz/oscuridad) y temperatura (20°C +/- 3°C).

Tabla 1. Variedades comerciales y líneas experimentales utilizadas en el estudio

Variedades comerciales
Ivanka INTA
Bv1080-11
Prestige
Shakira
Jeniffer
Scarlett
MP1109
MP2122
Andreia
Traveler
Bv281-10
Explorer
Bv73-02
Scrabble
Bv272-10
Sylphide
Josefina INTA
Quilmes Carisma
MP1012
Bv1026-11

Ensayo de Antixenosis

El ensayo de antixenosis se realizó siguiendo el método de Flinn et al., (2001), en macetas plásticas de 5 kg de capacidad. Las semillas de cada variedad de cebada, previamente pre-germinadas en cajas de Petri, fueron sembradas en la periferia de las macetas equidistantes entre sí. Las 10 macetas (repeticiones) con los cultivares sembrados, fueron ubicadas en un diseño completamente al azar. En el estado de una hoja expandida fueron liberados en el centro de cada una de ellas el equivalente a 5 áfidos por planta. El ensayo fue realizado en oscuridad para evitar que la luz actúe como un estímulo en la elección de los insectos por los diferentes cultivares. El recuento de áfidos en cada planta se registró a las 24 h luego de la infestación. El número de áfidos en cada planta indica el grado de antixenosis que presenta cada variedad (Figura 7, A y B).

Figura 7. Ensayo de antixenosis de libre elección de hospedero. A) Diseño y siembra de las distintas variedades en cada una de las 10 repeticiones. B) Capuchones plásticos que se usaron para impedir la fuga de insectos y la contaminación del ensayo.

A)



B)



Ensayo de Tolerancia

La tolerancia al pulgón verde de los cereales fue evaluada a través de la medición de diferentes parámetros de crecimiento y cálculos de índices de las plantas siguiendo el método de Flinn et al., (2001). Las semillas de todas las variedades comerciales de cebada fueron pre-germinadas en cajas de Petri y luego trasplantadas a macetas plásticas de 8 cm de diámetro y 10 cm de altura. Al estado de 2da hoja expandida, dos plantas de un mismo genotipo fueron dispuestas en parejas según similar altura y crecimiento. Una de las plantas de cada par fue infestada con 8 pulgones adultos colocados en la base del tallo con un pincel de cerdas finas. La otra planta permaneció sin infestación como testigo. Las macetas fueron ubicadas en un diseño de bloques completamente al azar, con 10 repeticiones y cada bloque contó con un par de plantas de cada genotipo. Todas las macetas (infestadas y controles) fueron cubiertas durante el ensayo con un capuchón plástico con ventilación (Figura 8).

A los 21 días aproximadamente o cuando el genotipo más susceptible presentó el 95% de clorosis en la primera hojas, se dio por finalizado el ensayo y se realizaron las mediciones (Figura 9).

Los parámetros evaluados fueron:

- Evaluación visual del daño

El daño fue clasificado en cada una de las plantas infestadas según una escala (1= sin daño a 9= plana muerta) cuando la o las variedades más susceptibles mostraron un valor de 9, momento en el que se dio por finalizado el ensayo (aproximadamente a los 20, 21 días post infestación). Los valores de la escala de 1 a 3 indican resistencia, de 4 a 6 moderadamente resistente a moderadamente susceptible y de 7 a 9 susceptible (Webster et al. 1991).

- El peso seco aéreo (PS) se determinó con una balanza de precisión Mettler Toledo, expresado en miligramos (mg). El peso seco de cada planta se obtuvo colocando las muestras en sobres metalizados en forma individual en una estufa a 65° C durante 72 horas. Con los valores obtenidos se calculó el índice de peso seco (IPS) $IPS = PSI/PSC$, donde PSI es el peso seco de las plantas infestadas y PSC es el peso seco de las plantas controles.

- El contenido de clorofila en la primera y segunda hoja utilizando un medidor automático SPAD-502 Minolta, (Milton Keynes). Se tomaron 3 medidas en cada una de las hojas (zona apical, media y basal) y se calculó el promedio entre los valores. Con estos resultados se halló el índice de SPAD (ICL) para cada genotipo: $ICL = CLI/CLC$, donde CLI representa al valor de las unidades SPAD de las plantas infestadas con pulgones y CLC de las plantas controles sin infestación. Esto se repitió para la primera y segunda hoja, ICL_{H1} e ICL_{H2} respectivamente.

Figura 8. Ensayo en macetas para la evaluación de la tolerancia de variedades comerciales de cebada al pulgón verde de los cereales.

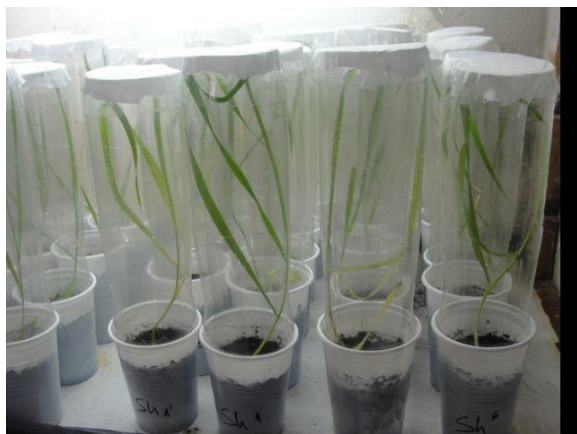


Figura 9. Daño producido por el pulgón verde de los cereales luego de 21 días desde la infestación, en plántulas de cebada comparadas con los controles, sin infestación.



Ensayo de Antibiosis

Se diseñó un ensayo con 10 repeticiones de cada variedad, realizando el seguimiento individual del ciclo de vida de los áfidos desde su nacimiento hasta la muerte.

Se siguió el método de Flinn et al., (2001), modificado por Tocho (2011). Las semillas de cada variedad, pre-germinadas previamente en cajas de Petri, fueron dispuestas en forma individual en el centro de macetas plásticas, ubicadas bajo un

diseño completamente al azar. Al estado de primera hoja expandida, las plantas fueron infestadas con dos ninfas neonatas del primer estadio extraídas de las macetas de cría. Las ninfas fueron observadas cada 48 hs hasta que alcanzaron su período reproductivo. En ese momento una de ellas fue retirada y se continuó el ciclo de la ninfa restante hasta su muerte o hasta 3 días posteriores a la última parición. En cada evaluación fue registrada y removida de la planta la descendencia hasta la finalización del período reproductivo de la hembra adulta.

Los parámetros evaluados fueron:

- La longevidad (L). Se consideró el período que media entre el día del nacimiento de la ninfa hasta la muerte de la hembra o, en su defecto hasta tres días posteriores a la finalización del período reproductivo o última parición.
- La fecundidad (F). Representa el número de ninfas totales producidas por hembra durante todo su ciclo.

Análisis estadísticos

Los datos provenientes de cada ensayos fueron analizados con el programa estadístico STATISTICA versión 10 (2011), mediante ANOVA de una sola vía. Con el propósito de determinar diferencias entre los valores promedios se aplicó la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

Se analizó el estudio de los residuales para corroborar el cumplimiento de los supuestos del análisis del ANOVA. Según los resultados del test de Barlett, se llevó a cabo una transformación de los datos de algunos parámetros evaluados, aplicando la raíz cuadrada, con el fin de normalizar los datos y de homogeneizar la varianza del error. Luego del análisis estadístico, los datos fueron transformados nuevamente para la presentación de los resultados en los gráficos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ensayo de antixenosis

Se observaron diferencias significativas en la elección del pulgón verde por las variedades de cebada ofrecidas para su alimentación ($F=3,171$; $g.l.=19$; $p= 0,00033$). Los valores promedios estuvieron dentro de un rango que varió entre 2 y 10 pulgones. La variedad Shakira fue la menos preferida (la más antixenótica) con un promedio de 2,89 pulgones, en tanto Andreia fue la más preferida con un promedio de 10 áfidos

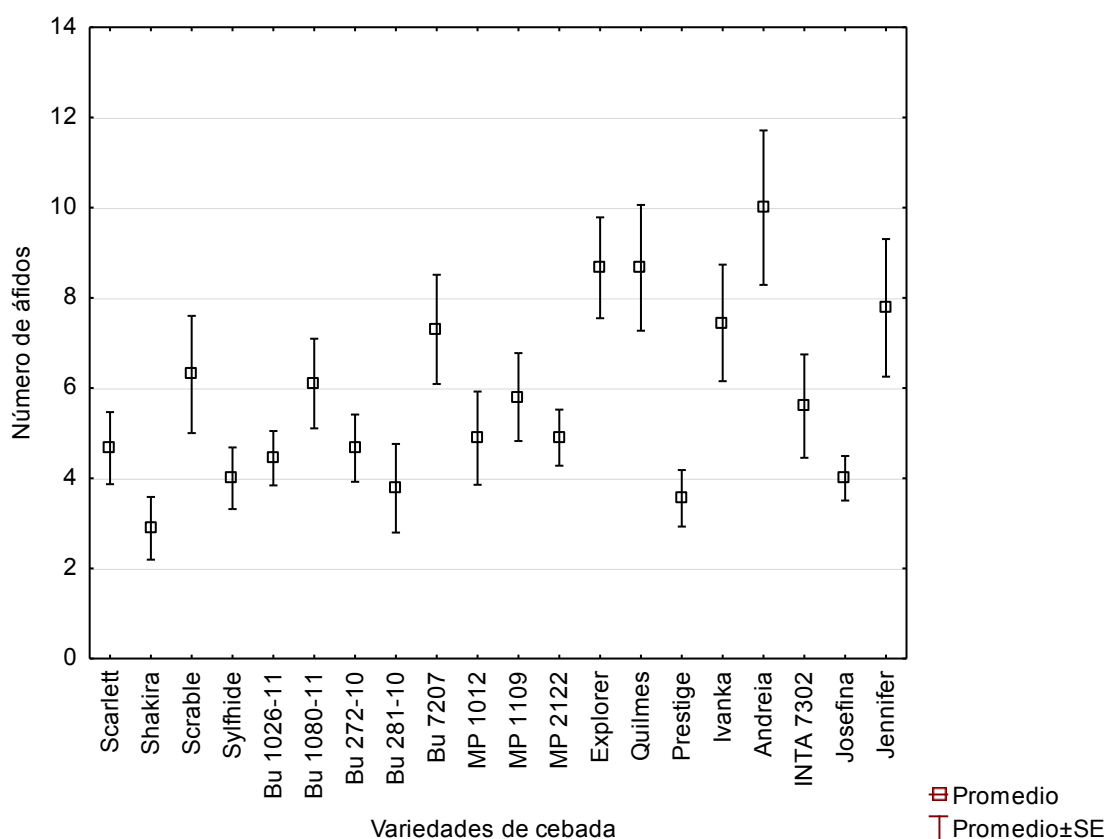
(Tabla 1). Otras 7 variedades se diferenciaron estadísticamente de Andreia, entre las que se encuentra Scarlett, con valores promedio de 4,67 (Tabla 2; Figura 10).

Tabla 2. Valores promedios \pm el error estándar (ES) del número de *S. graminum* en variedades comerciales de cebada cervecera.

Variedades de cebada	Promedio \pm ES número de pulgones
Shakira	2,89 \pm 0,69a
Prestige	3,56 \pm 0,62ab
Bu 281-10	3,78 \pm 0,98ab
Sylfhide	4 \pm 0,68ab
Josefina INTA	4 \pm 0,49ab
Bu 1026-11	4,44 \pm 0,60ab
Bu 272-10	4,67 \pm 0,74ab
Scarlett	4,67 \pm 0,79ab
MP 1012	4,89 \pm 1,03abc
MP 2122	4,9 \pm 0,62abc
INTA 7302	5,6 \pm 1,14abc
MP 1109	5,8 \pm 0,97abc
Bu 1080-11	6,1 \pm 0,99abc
Scrabble	6,3 \pm 1,30abc
Bu 7207	7,3 \pm 1,21abc
Ivanka	7,44 \pm 1,29abc
Jeniffer	7,78 \pm 1,52abc
Q. Carisma	8,67 \pm 1,39abc
Explorer	8,67 \pm 1,11abc
Andreia	10 \pm 1,71c
Rango (Mín-Max)	2,89-10

Letras iguales representan diferencias no significativas

Figura 10. Representación gráfica de los valores promedios \pm el error estándar (ES) del número de insectos (pulgón verde de los cereales) en variedades comerciales de cebada cervecera.



Ensayo de tolerancia

Las plantas fueron clasificadas según el daño producido por el pulgón verde de los cereales según una escala (1-9) en resistentes (1-3), moderadamente resistentes a moderadamente susceptibles (4-6) y susceptibles (7-9). Los análisis estadísticos indicaron diferencias significativas en el nivel de daño entre las variedades de cebada (F : 6,10; n g.l.: 161; p : 0,00003).

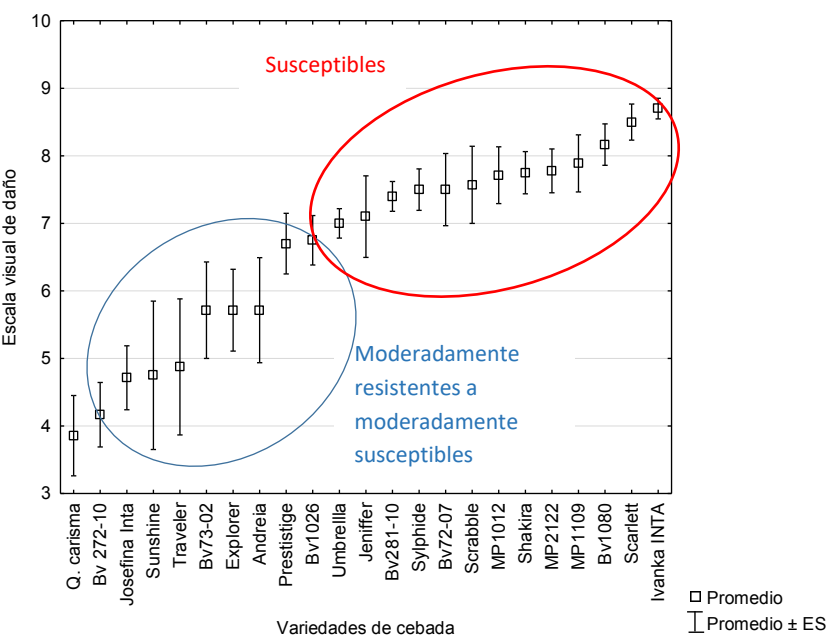
La mayoría de las líneas se comportaron como susceptibles luego de 21 días de infestación, presentando la primera y segunda hoja con daño clorótico en su totalidad o casi en su totalidad, entre las que se encuentra la variedad Scarlett (Figura 11 y Figura 12). Otras 9 variedades fueron clasificadas con un nivel intermedio de tolerancia, con la primera hoja con daño clorótico total y con menor porcentaje de daño

en la segunda. La variedad Quilmes carisma (Q. carisma) fue la única identificada como resistente con un porcentaje de daño foliar menor que el resto (Figura 12).

Figura 11. Daño clorótico ocasionado por el pulgón verde de los cereales en una de las variedades de cebada susceptibles.



Figura 12. Representación de la tolerancia de variedades de cebada frente al daño ocasionado por el pulgón verde de los cereales, según una escala de daño clorótico foliar. Resistente (1-3), moderadamente resistente a moderadamente susceptible (4-6) y susceptible (7-9).



La tolerancia también se determinó midiendo el peso seco de las plantas infestadas por el áfido y el contenido de clorofila en la primera y en la segunda hoja, teniendo como referencia las plantas controles sin infestación. Con estos datos se calcularon los índices de peso seco (IPS) y del contenido de clorofila en la primera

hoja (ICL_{H1}) y en la segunda hoja (ICL_{H2}). Estos índices representan una estimación del comportamiento de las plantas infestadas con pulgón verde en relación a sus respectivos controles sin infestación.

El análisis de la varianza mostró diferencias significativas en el IPS y en el ICL en la primera y en la segunda hoja (Tabla 3).

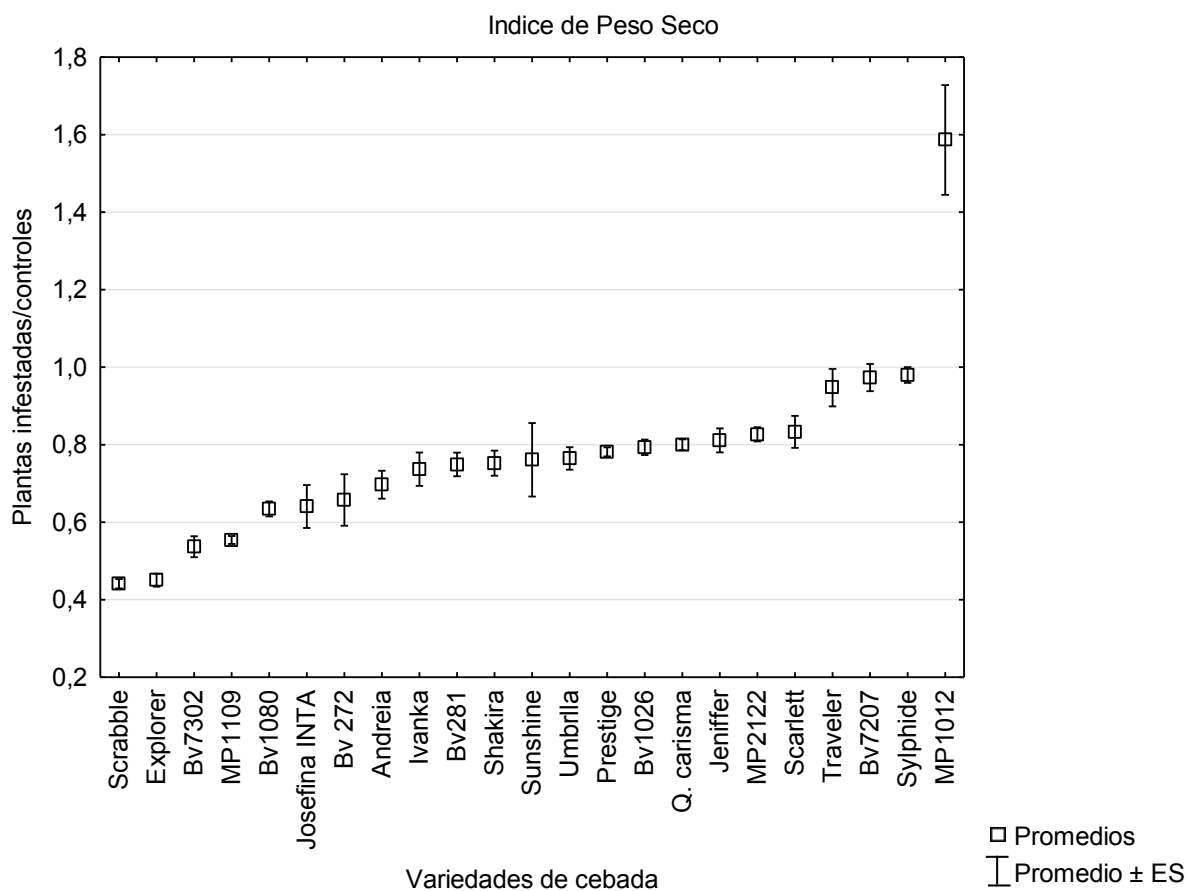
Todas las variedades de cebada infestadas con áfidos mostraron pérdida de peso seco que se tradujo en un mayor o menor valor de Índice de Peso seco en relación a sus respectivos controles. Entre las variedades probadas hubo variabilidad en el IPS, aquellas que presentaron un mayor IPS son los genotipos que mantienen un peso similar al de sus controles luego del período de infestación, sin que se vea significativamente afectado el crecimiento de las plantas. Pocas variedades tuvieron valores elevados de IPS, cercanos a la unidad. En cambio, la mayoría de las variedades tuvieron valores de IPS entre 0,6 y 0,8 que representa una pérdida de peso seco de las plantas dañadas del 60 al 80% del peso seco de sus controles, respectivamente. Cuatro variedades tuvieron la mayor pérdida de peso seco con valores inferiores a 0,6 (Figura 13).

En resumen, las variedades MP 1012, Sylphide, Bv7207 y Traveler fueron las más tolerantes en cuanto al IPS, con diferencias estadísticas con las variedades susceptibles Scrabble, Explorer, Bv7302, MP11096 (Figura 13).

Tabla 3. Análisis de la varianza del Índice de Peso seco (IPS), Índice de clorofila en la primera hoja (ICL_{H1}) y en la segunda hoja (ICL_{H2}) calculados en diferentes variedades de cebada luego de un período de infestación con pulgón verde de los cereales.

Fuente de variación	IPS			ICL_{H1}			ICL_{H2}	
	<i>g.l.</i>	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>g.l.</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
Genotipo	22	20,58	0,0001	22	9,03	0,0001	4,21	0,0001
Error	161			157				

Figura 13. Índice de Peso Seco calculado en variedades de cebada, luego de un período de infestación con pulgón verde.



Todas las plantas que fueron expuestas a la alimentación del insecto, manifestaron daño clorótico en relación a los testigos sin infestación, quienes mantuvieron el verdor de las hojas sin pérdida de clorofila. Sin embargo, como fue mencionado anteriormente y quedó expresado en la escala visual de daño, la primera hoja fue la más afectada en todas las variedades. En la segunda hoja, el daño fue apreciable pero fue menor que en la hoja más vieja.

Esto responde a un patrón de alimentación espacial y temporal (Weng et al., 2002) de esta especie de áfidos que difiere de otras especies tales como el pulgón ruso del trigo (*Diuraphis noxia* M.). El pulgón verde comienza a alimentarse por el tallo de las plántulas y continúa hacia la primera hoja. Una vez que dicha hoja está en su gran mayoría dañada con pérdida de clorofila y de turgencia, el insecto se desplaza hacia los tejidos foliares más nuevos. El movimiento acrópeto de los insectos y su consecuente daño, es lo que pudo observarse en el ensayo

Hubo una amplia variabilidad en el ICL en la primera hoja con diferencias significativas entre ellas. Scrabble, Scarlett, BV1080 y Umbrella fueron las variedades más susceptibles, diferenciándose con Prestige, Traveler, Bv281, Bv272, Sunshine, Jeniffer, Bv7207, Q.carisma y Sylphide, que tuvieron un ICL superior al 50 % (Figura 14). Las variedades restantes tuvieron ICL con valores intermedios a las situaciones mencionadas previamente.

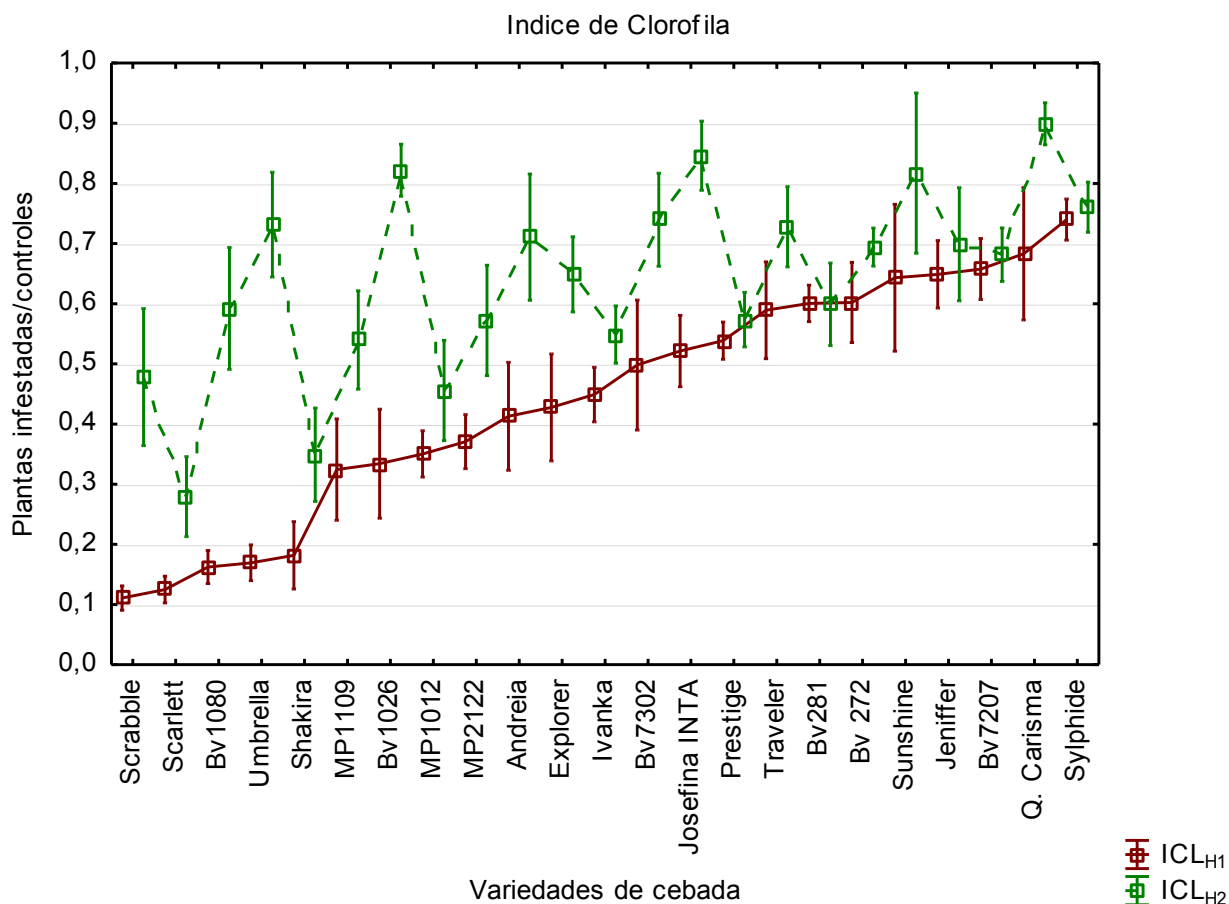
En cuanto al ICL en la segunda hoja, Sunshine, Q. Carisma, Bv1026, Sylphide y Josefina INTA fueron las más tolerantes con diferencias estadísticas con Scrabble, Scarlett, Shakira, MP1012, MP1109.

Aunque la pérdida de peso seco es considerada la medición óptima para estimar la tolerancia bajo la presencia de *Schizaphis graminum*, la medición de la clorofila provee una estimación de la habilidad de la planta de sobrevivir al ataque de áfidos y continuar su normal crecimiento cuando la presión de estos disminuye, situación comúnmente observada en el campo.

En resumen, se pueden identificar algunas variedades que podrían clasificarse como tolerantes al pulgón verde según la escala visual, que tuvieron escasa pérdida de peso seco en relación a sus testigos, pero que además, mantuvieron la clorofila en la primera y segunda hoja. Entre ellas, se encuentra Q. Carisma, Sylphide, Sunshine y Bv7207. Entre las variedades medianamente tolerantes, se encuentran Traveler, Josefina INTA, Jeniffer y Traveler.

Entre los cultivares más susceptibles se ubican Scrabble, Scarlett, Shakira, MP1109 entre otros, con mayores pérdidas de peso seco y clorofila.

Figura 14. Índice de Clorofila calculado para la primera (ICL_{H1}) y para la segunda hoja (ICL_{H2}) de variedades de cebada, luego de un período de infestación con pulgón verde.

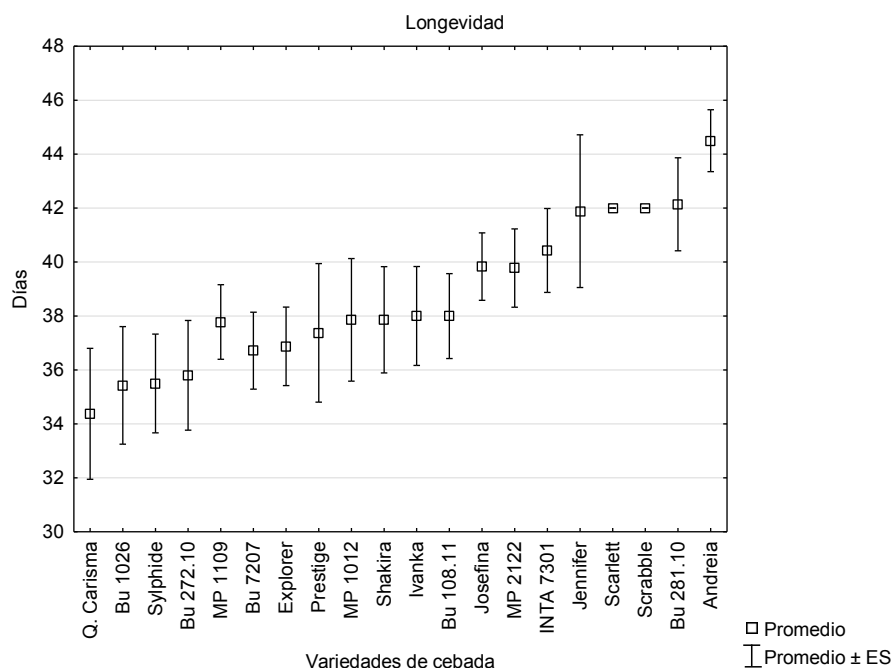


Ensayo de Antibiosis

Se encontraron diferencias estadísticas significativas en la longevidad (L) ($F=2,40$; $g.l.=138$; $p= 0,0018$) y en la fecundidad (F) ($F=2,324$; $g.l.=138$; $p= 0,0027$) de los áfidos que fueron criados sobre diferentes variedades de cebada.

El ciclo de vida (longevidad) del pulgón verde de los cereales fue variable al ser criado sobre las distintas variedades de cebada, con un mínimo de 23 días y un máximo de 56. La variedad que condicionó el ciclo más corto del insecto fue Q. Carisma con un promedio de 34,4 días, que se diferenció estadísticamente de Andreia con un promedio de 44,5 días. El resto de las variedades no tuvieron diferencias estadísticas entre sí (Figura 15).

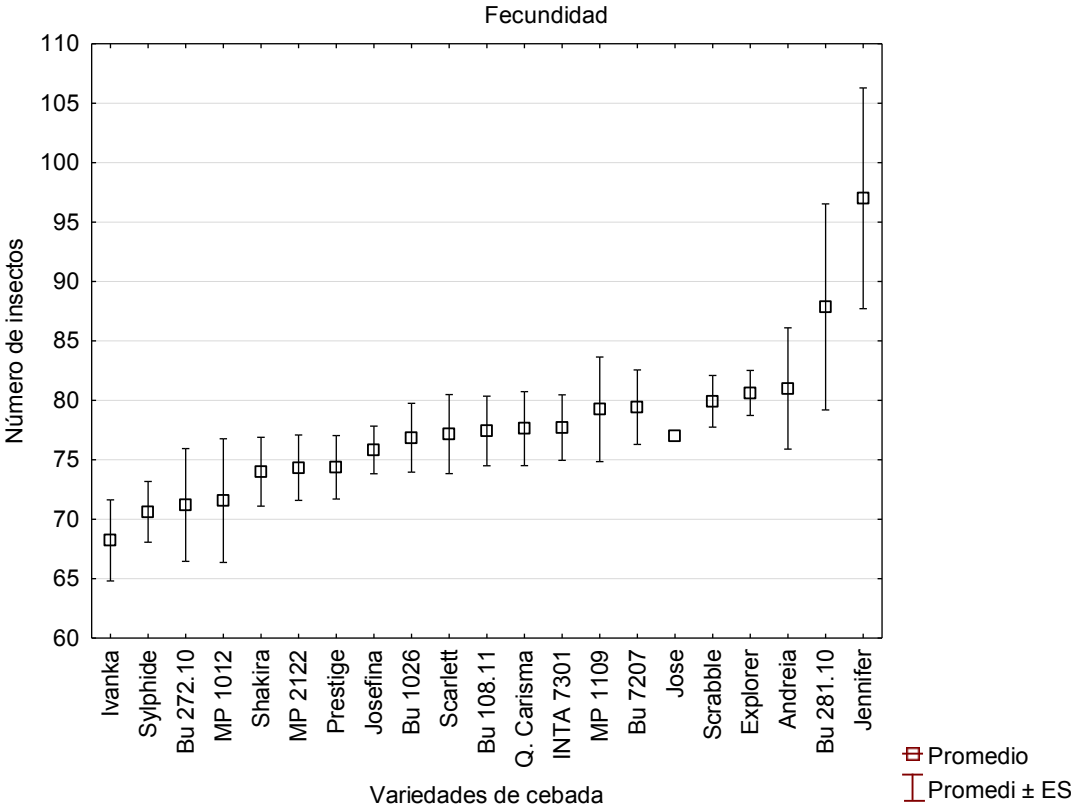
Figura 15. Longevidad. Duración del ciclo de vida del pulgón verde de los cereales criado sobre variedades de cebada expresada en días.



El número de ninfas producido por hembra durante su ciclo de vida (F) fue variable entre las variedades de cebada ensayada con un mínimo de 48 y un máximo de 130 insectos. Todas las variedades tuvieron una elevada fecundidad, pero solo Jennifer, que permitió el desarrollo del mayor número de áfidos, se diferenció de otras 7 variedades con una fecundidad menor.

Es importante destacar que no hubo una correspondencia entre las variedades más antibióticas por condicionar ciclos cortos sobre las plantas huéspedes, con aquellas más antibióticas por presentar menor fecundidad. Las únicas variedades que presentaron baja longevidad y fecundidad fueron Sylphide y Bu 272.10, siendo las variedades más antibióticas (Figuras 15 y 16). La variedad Sylphide, además de ser antibiótica, fue clasificada como tolerante con valores de índice de peso seco e índice de clorofila superior a otros cultivares.

Figura 16. Fecundidad expresada en número de ninfas totales producidas por hembra durante su ciclo reproductivo, en variedades de cebada.



CONCLUSIONES

Entre las variedades de cebada cervecera utilizadas en los ensayos existen diferencias en su resistencia al pulgón verde de los cereales.

Algunas de ellas, Q. Carisma, Sylphide, Sunshine y Bv7207, fueron tolerantes a la alimentación del áfido y a su vez, Sylphide presentó características de antibiosis.

Sin embargo, en la actualidad el panorama varietal se encuentra dominado por cultivares con alto potencial de rendimiento y calidad como son Andreia (40%), Shakira (35%) y Scarlett (10%), las cuales han sido caracterizadas como susceptibles o moderadamente susceptibles.

Por lo tanto, de presentarse condiciones favorables para el avance de esta plaga, casi la totalidad de la superficie sembrada con cebada podría ser afectada. Esto pone de manifiesto la importancia de conocer la resistencia de un genotipo a una determinada plaga ya que puede condicionar la elección de las variedades a sembrar, especialmente en aquellas regiones en las cuales esa plaga genera pérdidas o puede ser un potencial problema. En consecuencia, la información generada en este estudio representa un insumo directo a implementar en los programas de mejoramiento de cebada, a través de cruzamientos específicos en la futura búsqueda de cultivares competitivos con resistencia al “pulgón verde de los cereales”.

Además, cabe destacar que los resultados obtenidos en el presente trabajo representan la primera aproximación a nivel fenotípico de la respuesta de genotipos de cebada registrados en Argentina frente al ataque del pulgón verde de los cereales, que representan la totalidad del área sembrada con dicho cultivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Al-Mousawi A.H., Richardson P.E. y Burton R.L. 1983. Ultraestructural studies of greenbug (Hemíptera: Aphididae), feeding damage to susceptible and resistant wheat cultivars. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 76: 964-970.

Anderson M. y Bromley A.K. 1987. Sensory system. In "Aphids, their biology, natural enemies and control". In Minks, A.K. y Herrewijn, P., eds. *Elsevier*, Amsterdam. 2A: 153-162

Arriaga H.O. 1956. El centeno 'Insave F.A.', híbrido sintético resistente a la toxemia del pulgón verde de los cereales *Rev. Fac. Agron.* XXXIX (3ª época), 35-50.

Arriaga H.O. 1969. Resistance to greenbug toxemia. *Barley News* 13, 58-60

Arriaga H.O. 1975. Cebada La Plata Bordeva F.A. resistente al pulgón verde de los cereales (*Schizaphis graminum*, Rondan). *Rev. Fac. Agr. LI* (3a época), entrega 1-2.

Avé, D.A., Gregory, P. y Tingey, W.M., 1987. Aphid repellent sesquiterpenes in trichomes of *Solanum berthaultii* and *S. tuberosum*. *Entomol. Exp. Appl.* 44: 131-138.

Baker B., Zambryski P. y Dinesh-Kumar S.P., 1997. Signaling in plant-microbe interactions. *Science* 276: 726-733.

Baldwin I.T. y C.A. Preston, 1999. The eco-physiological complexity of plant responses to insect herbivores. *Planta* 208: 137-145.

Blechert S., Brodschelm W., Hölder S., Kammerer L., Kutchan T.M., Vlueller M.J., Xia Z-Q. y Zenk M.H. 1995. The octadecanoic pathway: signal molecules for the regulation of secondary pathways. *Proc Natl Acad Sci. USA* 92: 4099-4105.

Burton R.L. 1986. Effect of greenbug (Homoptera: Aphididae) damage on roots and shoot biomass in wheat seedlings. *J. Econ. Entomol.* 79: 633-636.

Carballo M. y Quezada J. 1987. Uso de parásitos en el control biológico de áfidos. En: Curso de áfidos. Artículos selectos sobre áfidos y su importancia económica en la Agricultura de Centroamérica. CATIE. Panamá. 7-19.

Carter N., Mc Lean I.F.G., Watt A.D. y Dixon A.F.G., 1980. Cereal aphid: a case study and review. In *Applied Biology V* (ed. T.H. Coaker). Academic, London. 271-348.

Castro A.M. y Rumi C.P., 1987. Greenbug damage on the aerial vegetative growth of two barley cultivars. *Env. Expt. Botany* 27,3: 263-271

Castro A.M., Rumi C.P. y Arriaga H.O. 1987. Deterioro en la producción de avena susceptible a *Schizaphis graminum* (Rondan) sometidas a un período de infestación y su posterior recuperación. *Turrialba* 39: 97-105.

Castro A.M., Rumi C.P. y Arriaga H.O., 1988. Influence of greenbug on root growth of resistant and susceptible barley genotypes. *Environ. Expt. Botany* 28: 61-72.

Castro A.M., Rumi C.P. y Arriaga H.O., 1989. Efectos de la infestación del pulgón verde *Schizaphis graminum* en el ritmo de crecimiento de plántulas de sorgo granífero (*Sorghum bicolor*, Moench.) *Turrialba* 40: 292-298

Castro A.M., Rumi C.P. y Arriaga H.O., 1990. Alteraciones en el crecimiento radical de cultivares de sorgo infestado con pulgón verde. *Turrialba* 41: 166-171.

Castro A.M. 1994: Characterization of greenbug population and clones from Argentina. In: *The importance of Hordeum chilense for breeding aphid resistance in cereals*. PhD. Thesis, 165 pp., University of Córdoba, Spain, pp. 98-128.

Castro, AM, Ramos S., Vasicek A., Worland A., Giménez D., Clua A.A., Suárez E., 2001. Identification of wheat chromosomes involved with different types of resistance against greenbug and Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*, Mordvilko) *Euphytica* 118, 3: 321-330.

Cermeli M. 1987. Control de áfidos plagas en Venezuela. En: Curso de áfidos. Artículos selectos sobre áfidos y su importancia económica en la Agricultura de Centroamérica. CATIE. Panamá. 20-35.

Clúa A.A., Castro A.M., Ramos S., Giménez D.O, Vasicek A., Chidichimo H.O., y Dixon A.F.G., 2004. The biological characteristics and distribution of *Schizaphis graminum* and Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Hemiptera: Aphididae), in Argentina and Chile. *European Journal of Entomology* 101: 193-198..

Dillwith J.W. y Berberet R.C. 1990. Lipids at the aphid- plant interface. In "Aphid-Plant Genotype Interactions", Campbell, R.K. y Eikenbary, R.D., eds., *Elsevier*. 207-223.

Dixon A.F.G. 1990a. Ecological interactions of aphids and their host plants. En "Aphid-plant genotype interactions". Editado por R.K. Campbell y R.D. Eikenbary. Elsevier. Ámsterdam. 7-19.

Dixon A.F.G. 1998. Aphid Ecology. Chapman and Hall, London, 300 pp.

Dorschner D.W., Ryan J.D., Johnson R.C. y Eikenbary R.D., 1987. Modification of host nitrogen levels by the greenbug (Homoptera: Aphididae): its role in resistance of winter wheat to aphids. *Environ. Entomol.* 16: 1007-1011.

Dreyer D.L y Campbell, B.C. 1987. Chemical basis of host-plant resistance to aphids. *Plant, Cell and Environment* 10: 353-361.

Dughetti, A. 2012. Pulgones: Clave para identificar las formas ápteras que atacan a los cereales. RIAN, Red de información agropecuaria nacional. INTA y Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. 44 pp.

Douglas A.E. 1998. Nutritional interactions in insect-microbial symbioses: Aphids and their Symbiotic Bacteria *Buchnera*. *Annual Review of Entomology* 43: 17-37.

Fujimaki S., Fujiwara T., y Hayashi H. 2000. A new method for direct introduction of chemicals into a single sieve tube of intact rice plants. *Plant Cell Physiol.* 41: 124 – 128

Gerloff E.D. y Ortman E.E. 1971. Physiological changes in barley induced by greenbug feeding stress. *Crop Sci.* 11: 174-176.

Karban R. y Myers J.H. 1989. Induced plant responses to herbivory. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 20: 331 – 348.

Kessler A. y Baldwin I.T. 2001. Defensive function of herbivore-induced plant volatile emissions in natru. *Science* 291: 2141-2144.

Klingauf F. A. 1987. Host plant finding and acceptance. In A.K. Minks y P. Harrewijn (eds.), Aphids: their biology, natural enemies, and control. Volume 2A. *Elsevier Science Publishers*, New York, NY. 209 – 223.

Kogan M. y Ortman E.F. 1978. Antixenosis. A new term proposed to define Painter's "Non-preference" modality of resistance. *Bull. Entomol. Soc. AMER.*, 24: 175-176.

Kogel G., Beissman B., Reisener H.J. y Kogel K-H. 1998. A single glycoprotein from *Puccinia graminis* f. sp. *Tritici* cell walls elicits the hypersensitive lignification response in wheat. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 33: 173-185.

Lage J., Skovmand B. y Andersen S.B.. 2003. Expression and suppression of resistance to greenbug (Homoptera: Aphididae) in synthetic hexaploid wheats derived from *Triticum dicoccum* x *Aegilops tauschii* crosses. *J. Econ. Entomol.* 96: 202-206.

McDowell J.M. y Dangi J.L. 2000. Signal transduction in the plant innate immune response. *Trends Biochem Sci* 25: 79 -82.

Molina Cano José Luis. 1989. "La Cebada" Morfología, fisiología, genética, agronomía and usos industriales. 1ª Edición, ISBN 84-7114-263-5. Páginas 252.

Miles P.W. 1999. Aphid saliva. *Biol Rev* 74:41–85.

Ministerio de Agroindustria 2018. <http://www.minagri.gob.ar/new/0-0/programas/dma/granos/Informe-de-cebada.pdf>

Molyneux R.J., Campbell B.C. y Dreyer, D.L., 1990. Honeydew analysis for detecting phloem transport of plant natural products. Implications for host-plant resistance to sap-sucking insects. *J.Chem. Ecol.* 16: 1899-1909.

Niemeyer H.M. 1990 Secondary plant chemicals in aphid-host interactions. In Aphid-plant interactions: populations to molecules. Peters, D.C., Webster, J.A. & Chlouber, C.S., eds., USDA/Agricultural Research Service, Oklahoma State University. pp. 101-111.

Noriega A., Chidichimo H. y Castro A.M. 2000. Determinación de biotipos en tres poblaciones de pulgón verde colectados en tres localidades de importancia cerealera en Argentina. *Rev. Fac. Agr. La Plata* 104, 2: 85-92.

Painter, R.H. 1951. Insect Resistance in Crop Plants. The McMillan Co. New York., 151.

Painter, R.H. y Peters, D.C, 1956. Screening wheat varieties and hybrids for resistance to the greenbug. *J. Econ. Entomol.* 49: 546-548.

Pollard D.G. 1973. Plant penetration by feeding aphids (Hemiptera: Aphidoidea): a review. *Bull. Ent. Res.* 62: 631-714.

Porter D.R., Burd J.D., Shufran K.A., Webster J.A. y Teetes G.L. 1997. Greenbug (Homoptera: Aphididae) biotypes: selected by resistant cultivars or preadapted opportunists? *J. Econ. Entomol.* 90: 1055 – 1065.

Rahbé Y., Digilio M.C., Febvay G., Guillaud J., Fanti P. y Pennacchio F. 2002. Metabolic and symbiotic interactions in amino acid pools of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*, parasitized by the braconid *Aphidius ervi*. *J. Insect Physiol.* 48: 507–516.

Rondani, C. 1852. Sulla Specie d'insetto volante in gran quantità nella città di Parma. Gazzetta de Parma, Appendice, <http://www.itg-rondani.it/>

Ryan J.D., Johnson R.C., Eikenbary R.D. y Dorchner KW., 1987. Drought/greenbug interactions: photosynthesis of greenbug resistant and susceptible wheat. *Crop Sci.* 27, 283-288.

Sethi S.L. y Swenson K.G. 1967. Formation of sexuparae in the aphid *Eriosoma pyricola*, on pear roots. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 10: 97–102.

StatSoft, Inc., 2011. STATISTICA (data analysis software system), version 10. www.statsoft.com.

Tacaliti, M.S., Molina M., Mari S., Acevedo A., Giménez D., Chidichimo H., Tocho E., Vasicek A., Barragán M., Kamlofski C., Clúa A. y Castro A., 2002. El Índice Mitótico como parámetro de evaluación de la tolerancia al estrés inducido por áfidos. XI Reunión Latinoamericana de Fisiología Vegetal. Punta del Este, Uruguay. 241

Thaler J.S. 1999. Jasmonate-inducible plant defences cause increased parasitism of herbivores. *Nature* 399:686-688

Tocho, E. 2011. Identificación y caracterización de la resistencia a *Schizaphis graminum* (Rondani) (Hemiptera: Aphididae) y a *Diuraphis noxia* (Hemiptera: Aphididae) en cebada cervecera (*Hordeum vulgare*). Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Naturales y Museo, La Plata, Argentina, 188 pp.

Webster J.A., y Starks K.J., 1984. Sources of resistance in barley to two biotypes of greenbug *Schizaphis graminum* (Rondani). Homoptera: Aphididae. *Protect. Ecol.* 6: 51-55.

Webster JA, Kenkel P. 1991 Benefits of managing small-grain pests with plant resistance. In Wiseman BR, Webster JA (eds) Preceedings, Thomas Say Publications in entomology. Entomological Society of America. Lanham, MD, pp 87-114.

Weng Y. y Lazar M.D. 2002. Amplified fragment length polymorphism- and simple sequence repeat-based molecular tagging and mapping of greenbug resistance gene Gb3 in wheat. *Plant Breed* 121:218-223

Weibull J .1988. Free amino acids in the phloem sap from oats and barley resistant to *Rhopalosiphum padi*. *Phytochemistry* 27: 2069-2072.

Wikteliu S., Weibull J. y Pettersson J. 1990. Aphid host plant ecology: the bird cherry-oat aphid as a model. In "Aphid-plant genotype interactions", Campbell, R.K. y Eikenbary, R.D., eds., *Elsevier*, pp. 21-36.